

Rec'd PCT/PTO 11 MAR 2005
PCT/FP 03/02715
10/527665



REC'D 28 NOV 2003	
WIPO	PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 25 SEP. 2003

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

BEST AVAILABLE COPY

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
25 bis, rue de Saint Petersbourg
75000 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



ORGANISME INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INTELLECTUELLE

bis, rue de Saint Pétersbourg
800 Paris Cedex 08
téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 85 54

BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - L

BRI
N° 11354'02

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

GB 540 W / OHSEI

Réservé à l'INPI

REMISE DES PIÈCES

DATE

HEURE

13 SEPT 2002

75 INPI PARIS B

N° d'ENREGISTREMENT

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE

PAR L'INPI

0211415

13 SEP. 2002

Vos références pour ce dossier

(facultatif)

240057 D20622 NT

Confirmation d'un dépôt par télécopie

☐ N° attribué par l'INPI à la télécopie

2 NATURE DE LA DEMANDE

Cochez l'une des 4 cases suivantes

Demande de brevet

☒

Demande de certificat d'utilité

☐

Demande divisionnaire

☐

Demande de brevet initiale

N°

Date

ou demande de certificat d'utilité initiale

N°

Date

Transformation d'une demande de

☐

Date

brevet européen Demande de brevet initiale

N°

Date

3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

UTILISATION D'UN ANTICORPS INDUISANT LA SECRETION DE CYTOKINES EN THERAPIE.

4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ
OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE
LA DATE DE DÉPÔT D'UNE
DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE

Pays ou organisation

N°

Date

Pays ou organisation

N°

Date

Pays ou organisation

N°

Date

☐ S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)

☒ Personne morale

☐ Personne physique

Nom

ou dénomination sociale

Prénoms

Forme juridique

N° SIREN

Code APE-NAF

LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACTIONNEMENT ET DES
BIOTECHNOLOGIES

GROUPEMENT D'INTERET PUBLIC

180036147

Domicile

ou

siège

Rue

Code postal et ville

Pays

Zone d'activité de Courtaboeuf - 3, avenue des Tropiques 91940 LES ULIS

Nationalité

N° de téléphone (facultatif)

Adresse électronique (facultatif)

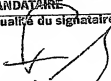
FRANCE

Française

N° de télécopie (facultatif)

☐ S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

Remplir impérativement la 2^{ème} page

REMISE DES PIÈCES DATE 13 SEPT 2002 LIEU 75 INPI PARIS B N° D'ENREGISTREMENT 0211415 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		(Réservé à l'INPI) OR 510 2 / 010201
Vos références pour ce dossier : <i>(facultatif)</i>		240057 NT
MANDATAIRE <i>(règle 11)</i> Nom Prénom Cabinet ou Société N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel Adresse Rue Code postal et ville Pays N° de téléphone <i>(facultatif)</i> N° de télécopie <i>(facultatif)</i> Adresse électronique <i>(facultatif)</i>		Cabinet REGIMBEAU 20, rue de Chazelles 75847 PARIS CEDEX 17 01 44 29 35 00 01 44 29 35 99 info@regimbeau.fr
INVENTEUR(S) Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes		Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)
SUPPORT DE RECHERCHE Établissement immédiat ou établissement différé		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation) <input checked="" type="checkbox"/> Établissement immédiat <input type="checkbox"/> Établissement différé
Paiement échelonné de la redevance <i>(en deux versements)</i>		Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non
RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention <i>(joindre un avis de non-imposition)</i> <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention <i>(joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG</i>
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes		
SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE <i>(Nom et qualité du signataire)</i>		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI 

92-1001

5 La présente invention concerne l'utilisation d'un anticorps pour la fabrication d'un médicament destiné à induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule effectrice appartenant au système immunitaire, ledit anticorps étant caractérisé en ce qu'il est obtenu par un procédé de sélection comprenant une mise en contact de
10 cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16, transformées ou non, dans un milieu réactionnel en présence de l'anticorps à tester et de l'antigène dudit anticorps et une mesure de la quantité d'au moins une cytokine produite par la cellule exprimant le récepteur CD16.

15 L'immunothérapie à l'aide d'anticorps polyclonaux ou monoclonaux est en passe de devenir un des aspect les plus importants de la médecine. En revanche, les résultats obtenus lors d'essais cliniques apparaissent contrastés. En effet, il peut s'avérer que l'anticorps monoclonal ne soit pas suffisamment efficace. Aujourd'hui, la recherche s'oriente sur le fragment Fcy de l'immunoglobuline afin d'améliorer les propriétés des anticorps. A terme, cela devrait permettre l'obtention d'anticorps qui interagissent et
20 activent les récepteurs des cellules effectrices (macrophage, lymphocyte T, H et NK).

La fixation d'un anticorps sur son ligand peut induire une activation de certaines cellules effectrices via leurs récepteurs Fc. Une des conséquences de l'activation des cellules est non seulement l'induction de propriétés fonctionnelles, comme l'ADCC ou
25 l'activation du complément, mais aussi la production de cytokines. Ces cytokines, produites au site d'activation des effecteurs, peuvent exercer différentes activités biologiques.

Or, dans le cadre de l'invention, on a trouvé que l'activation les récepteurs des cellules
30 effectrices produits des réponses très différentes conduisant à la libération d'une ou

plusieurs cytokines. Ces cytokines sont responsables de l'activation ou de l'inhibition de certains composants du système immunitaire selon le cas.

5 Ainsi, le problème est de savoir qu'elle est la capacité d'un anticorps donné à stimuler la production de cytokines par les cellules effectrices et quelles sont les conséquences d'une telle activation en fonction de la nature des cytokines libérées.

10 Il peut s'avérer par exemple qu'un même anticorps dirigé contre un antigène donné soit complètement inefficace lors qu'il est produit dans des lignées de myélome de souris, alors qu'il se montre très efficace lors qu'il est produit dans d'autres lignées cellulaires.

15 Ainsi, l'objectif est d'utiliser des anticorps qui ont été préalablement sélectionnés pour leur capacité à activer tels ou tels composants du système immunitaire, par exemple l'ADCC ou au contraire qui sont incapables d'induire une réponse cytotoxique.

20 A cet effet, on a trouvé que la fixation d'un anticorps sur son ligand peut induire une activation de la cellule Jurkat transfectée CD16 induisant la sécrétion d'IL2. Une forte corrélation est observée entre la sécrétion d'IL2 par Jurkat CD16 et l'activité ADCC médiée par le CD16 des cellules effectrices.

L'invention propose donc d'utilisation des anticorps sélectionnés par un test jurkat CD16 par mesure d'IL2 sécrétée ou d'autres cytokines, ce qui permet de garantir l'activité biologique desdits anticorps pour un usage thérapeutique.

25

Description

30 Ainsi, la présente invention se rapporte à l'utilisation d'un anticorps pour la fabrication d'un médicament destiné à induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule

effectrice appartenant au système immunitaire, ledit anticorps étant caractérisé en ce qu'il est obtenu par un procédé de sélection comprenant une mise en contact de cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16, transformées ou non, dans un milieu réactionnel en présence de l'anticorps à tester et de l'antigène dudit anticorps et une mesure de la quantité d'au moins une cytokine produite par la cellule exprimant le récepteur CD16.

On entend par cellule transformée, une cellule modifiée génétiquement de sorte à exprimer un récepteur, en particulier le récepteur CD16.

De préférence, on utilise pour la sélection des anticorps une lignée Jurkat transfectée avec un vecteur d'expression codant pour le récepteur CD16 comme cellule effectrice. Cette lignée est particulièrement avantageuse car elle est immortalisée et se développe indéfiniment dans des milieux cultures.

Lesdites cytokines libérées sont des interleukines, des interférons et des facteurs de nécrose tissulaire (TNF),

Ainsi, l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine choisie parmi IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10,...

TNF α et IFN γ par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.

De préférence, l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'IL-2 par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16. Le taux d'interleukine IL2 sécrétée reflète la qualité de l'anticorps fixé par le récepteur CD16 quant à son intégrité (fonction FC) et à son efficacité (site antigénique) de liaison à l'antigène. La mesure du taux d'IL2 est corrélée à une activité du type ADCC.

En outre, l'anticorps peut être sélectionné après avoir été purifié.

La sélection peut se faire sur des anticorps produits par des cellules couramment utilisées pour la production d'anticorps thérapeutiques, telles que CHO, YB2/0, les cellules lymphoblastoïdes humaines, les cellules d'insectes et les cellules de myélomes murines. La sélection peut également être appliquée à l'évaluation aux anticorps
5 produits par des plantes transgéniques ou de mammifères transgéniques.

Dans un mode de réalisation particulier, l'anticorps sélectionné est capable d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule leucocytaire, en particulier de la famille des NK (natural killer) ou par des cellules du groupe monocytes-macrophages.

10

L'invention se rapporte également l'utilisation des anticorps sélectionnés décrits ci-dessus spécifiques d'un antigène qui provient d'une cellule pathologique ou d'un organisme pathogène pour l'homme.

Cet anticorps est un anticorps monoclonal ou polyclonal.

15

Par exemple, l'anticorps est un anticorps monoclonal ou polyclonal de spécificité anti Rhésus du globule rouge humain.

L'anticorps selon l'invention peut également être un anticorps dirigé contre des virus pathogènes pour l'homme, contre des antigènes de tumeurs malignes ou contre les
20 antigènes d'une bactérie ou d'un parasite pathogène pour l'homme.

Avantageusement, l'anticorps sélectionné montre une augmentation supérieure à 100%, 250%, 500%, ou 1000% du taux de libération d'IL-2 par rapport au contrôle en absence d'anticorps ou en présence d'un anticorps donné comme référence négative.

25 Les procédés décrits ci-dessus peuvent éventuellement être réalisés en présence d'immunoglobulines humaines (IVIg).

Dans un aspect supplémentaire, l'invention vise l'utilisation desdits anticorps sélectionnés comme support thérapeutique en médecine humaine, notamment pour la

fabrication d'un médicament destiné au traitement des maladies autoimmunes, inflammatoires, des cancers et des infections par des agents pathogènes.

- 5 Dans un autre aspect, l'invention porte sur un kit permettant d'évaluer l'activité biologique d'un anticorps comprenant des moyens et des réactifs nécessaires pour le dosage d'au moins une cytokine, par exemple IL-2, IFN et/ou TNF, et des cellules effectrices exprimant un ou plusieurs récepteurs FcR, notamment le récepteur CD16.

Légende

10

FIGURE 1 : Libération de cytokine (IL-2, IFN et TNF) de leucocytes induits par des anticorps en présence de leur cible.

A- Schéma d'activation des leucocytes.

B- Les leucocytes ont été incubés avec différents anticorps en présence d'hématies.

- 15 Après une nuit d'incubation, la libération de TNFa et IFN γ dans le surnageant a été quantifiée par ELISA.

FIGURE 2 : Libération de cytokine (IFN, TNF) de cellules NK induites par des anticorps en présence de leur cible (LFB-R297-RBC)- 13/06/02

- 20 A- Schéma d'activation des cellules NK.

B-Des cellules NK purifiées ont été mélangées avec différents anticorps anti-D en présence d'hématies rhésus +. Après une nuit d'incubation, la libération de TNFa et IFN γ dans le surnageant a été quantifiée par ELISA.

- 25 **FIGURE 3 : Libération de cytokine (IFN, TNF) de cellules NK induites par des anticorps en présence de leur cible (LFB-R297-RBC)- 13/08/02**

Des cellules NK purifiées ont été mélangées avec différents anticorps anti-D en présence d'hématies rhésus +. Après une nuit d'incubation, la libération de TNFa et IFN γ dans le surnageant a été quantifiée par ELISA.

30

FIGURE 4 : Libération d'IL2 de Jurkat CD16 induites par un anti-CD20

A- Schéma d'activation de cellule Jurkat.

- 5 B- Des cellules Jurkat CD16 ont été mélangées avec différents anticorps anti-CD20 en présence d'hématies rhésus + et de PMA. Après une nuit d'incubation, la libération d'IL-2 dans le surnageant a été quantifiée par ELISA.

FIGURE 5 : Libération d'IL2 de Jurkat CD16 induites par un anti-D

A- Schéma d'activation de cellule Jurkat.

- 10 B- Des cellules Jurkat CD16 ont été mélangées avec différents anticorps anti-D en présence d'hématies rhésus + et de PMA. Après une nuit d'incubation, la libération d'IL-2 dans le surnageant a été quantifiée par ELISA.

Exemple 1 : Test Jurkat CD16

15

Anticorps témoins :

Anticorps polyclonaux WinRho, anticorps monoclonal DF5-EBV, anticorps monoclonal DF5-YB2/0

20 Principe :

Ce test estime la capacité des anticorps anti-D à se fixer sur le récepteur CD16 (Fc gamma RIII) exprimé sur les cellules Jurkat CD16 et à induire la sécrétion d'IL2.

Ce test consiste à mettre en contact en P96 : les anticorps anti-D, les hématies Rhésus positives traitées à la papaïne, les cellules Jurkat CD16 et du PMA.

- 25 Après une nuit d'incubation à 37°C, on centrifuge les P96 et on dose dans le surnageant la quantité d'IL2 sécrétée.

Mode opératoire

Matériel

Anticorps témoins positif : Poly-D WinRho, DF5 YB2/0.

30 Anticorps témoins négatifs : DF5

Hématies Rhésus positif

Cellules Jurkat CD16

Kit dosage IL2 : Quantikine de chez R/D.

Méthode

- 5 Traitement à la papaïne des hématies.

1ml de culot d'hématies incubé avec 1ml d'une solution de papaïne (1mg/ml) diluées en PBS incubée 10mn à 37°C. Puis 3 lavages en H₂O-NaCl 0.15M.

Mélange réactionnel :

- 10 -Anticorps : 50µl d'une dilution à 150ng/ml en IMDM 5% SVF
 -PMA 50µl d'une dilution à 40ng/ml en IMDM 5% SVF
 -Hématies traitées à la papaïne. 50µl à 8 10⁶/ml en IMDM 5% SVF
 -Jurkat CD16. 50µl à 2x10⁶/ml en IMDM 5% SVF

Incubation 1 nuit à 37°C

- 15 Puis centrifugation des plaques, prélèvement de 100µl de surnageants et dosage d'IL2 avec le kit commercial. lecture à 450nm.

On donne les valeurs (en pg/ml) sous forme d'histogramme pour chaque échantillon.

Exemple 2 : activation de cellules NK et production d'IL2 et d'IFN γ

20

Modèle de mise au point : lignée cellulaire Jurkat transfectée avec le gène codant pour le récepteur CD16. Applications : renforcement d'une réponse anti-tumorale. L'IL2 induit une activation des lymphocytes T et des cellules NK pouvant aller jusqu'à une stimulation de la prolifération cellulaire. L'IFN γ stimule l'activité des CTLs et peut

25

renforcer l'activité des macrophages.

Exemple 3 : activation de monocytes macrophages et production de TNF et d'IL-1Ra

1Ra

Applications : renforcement de la phagocytose et induction de propriétés anti-inflammatoires. Le TNF stimule la prolifération des macrophages et des lymphocytes infiltrant les tumeurs. L'IL-1Ra est une cytokine qui entre en compétition avec l'IL1 au niveau de son récepteur et exerce ainsi un effet anti-inflammatoire.

5

Exemple 3 : activation de cellules dendritiques et production d'IL10

Applications : induction d'une tolérance spécifique à certains antigènes. L'IL10 est une molécule inhibitrice de l'activation de différentes cellules effectrices et de la production de cytokines.

10

REVENDICATIONS

- 5 1. Utilisation d'un anticorps pour la fabrication d'un médicament destiné à induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule effectrice appartenant au système immunitaire, ledit anticorps étant caractérisé en ce qu'il est obtenu par un procédé de sélection comprenant une mise en contact de cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16, transformées ou non, dans un milieu
- 10 réactionnel en présence de l'anticorps à tester et de l'antigène dudit anticorps et une mesure de la quantité d'au moins une cytokine produite par la cellule exprimant le récepteur CD16.
- 15 2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisé en ce que le procédé de sélection est mise en œuvre avec une cellule Jurkat exprimant le récepteur CD16.
3. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des interleukines.
- 20 4. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des interférons.
5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des facteurs de nécrose tissulaire (TNF).
- 25 6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine choisie parmi IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TNF α et IFN γ par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.

REVENDECATIONS

- 5 1. Procédé de sélection d'un anticorps pour la fabrication d'un médicament destiné à induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule effectrice appartenant au système immunitaire, comprenant une mise en contact de cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16, transformées ou non, dans un milieu réactionnel en présence de l'anticorps à tester et de l'antigène dudit anticorps et
10 une mesure de la quantité d'au moins une cytokine produite par la cellule exprimant le récepteur CD16.
 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est mis en œuvre avec une cellule Jurkat exprimant le récepteur CD16.
 - 15 3. Procédé selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des interleukines.
 4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines
20 libérées sont des interférons.
 5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des facteurs de nécrose tissulaire (TNF).
 - 25 6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine choisie parmi IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TNF α et IFN γ par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.
-

7. Utilisation selon la revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que ce que l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'IL-2 par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.
- 5 8. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que l'anticorps est sélectionné après avoir été purifié.
9. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que l'antigène provient d'une cellule pathologique ou d'un organisme pathogène pour l'homme.
- 10 10. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné est capable d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule leucocytaire, en particulier de la famille des NK (natural killer) ou par des cellules du groupe monocytes-macrophages.
- 15 11. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps monoclonal ou polyclonal.
12. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps
- 20 est un anticorps de spécificité anti Rhésus du globule rouge humain.
13. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre des virus pathogènes pour l'homme.
- 25 14. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre des antigènes de tumeurs malignes.
15. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre les antigènes d'une bactérie ou d'un parasite pathogène
- 30 pour l'homme.

7. Procédé selon la revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que ce que l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'IL-2 par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.

- 5 8. Procédé selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que l'anticorps est sélectionné après avoir été purifié.

9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que l'antigène provient d'une cellule pathologique ou d'un organisme pathogène pour l'homme.

10

10. Procédé selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné est capable d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule leucocytaire, en particulier de la famille des NK (natural killer) ou par des cellules du groupe monocytes-macrophages.

15

11. Procédé selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps monoclonal ou polyclonal.

12. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps de spécificité anti Rhéus du globule rouge humain.

20

13. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre des virus pathogènes pour l'homme.

25 14. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre des antigènes de tumeurs malignes.

15. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre les antigènes d'une bactérie ou d'un parasite pathogène pour

30 l'homme.

16. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 15, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné montre une augmentation supérieure à 100%, 250%, 500%, ou 1000% du taux de libération d'IL-2 par rapport au contrôle en absence d'anticorps ou en présence d'un anticorps donné comme référence négative.
- 5
17. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 16 comme support thérapeutique en médecine humaine.
- 10
18. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 17 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des maladies autoimmunes, inflammatoires, des cancers et des infections par des agents pathogènes.
- 15
19. Kit permettant d'évaluer l'activité biologique d'un anticorps comprenant des moyens et des réactifs nécessaires pour le dosage d'au moins une cytokine, notamment IL-2, IFN et TNF, et des cellules effectrices exprimant le récepteur CD16.

16. Procédé selon l'une des revendications 1 à 15, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné montre une augmentation supérieure à 100%, 250%, 500%, ou 1000% du taux de libération d'IL-2 par rapport au contrôle en absence d'anticorps ou en présence d'un anticorps donné comme référence négative.
17. Procédé selon l'une des revendications 1 à 16 dans lequel l'anticorps sélectionné est utile comme support thérapeutique en médecine humaine.
18. Procédé selon l'une des revendications 1 à 17 dans lequel l'anticorps sélectionné est destiné à la fabrication d'un médicament pour le traitement des maladies autoimmunes, inflammatoires, des cancers et des infections par des agents pathogènes.
19. Kit permettant d'évaluer l'activité biologique d'un anticorps comprenant des moyens et des réactifs nécessaires et des cellules effectrices exprimant le récepteur CD16 pour la mise en mise du procédé selon l'une des revendications 1 à 18 permettant le dosage d'au moins une cytokine, notamment IL-2, IFN et TNF.

Activation de leucocytes par des anti-D

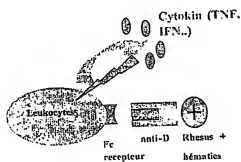


FIGURE 1A

Libération de cytokine (IL2, IFN et TNF) de leucocytes induite par des anticorps en présence de leur cible

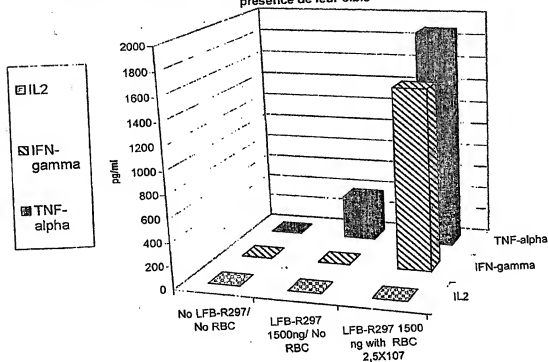


FIGURE 1B

Libération de cytokine (IFN, TNF) de cellules NK induites par des anticorps en présence de leur cible (LFB-R297-RBC)

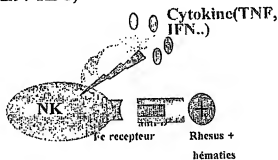


FIGURE 2A

Libération de cytokine (IFN, TNF) de cellules NK induites par des anticorps en présence de leur cible (LFB-R297-RBC)

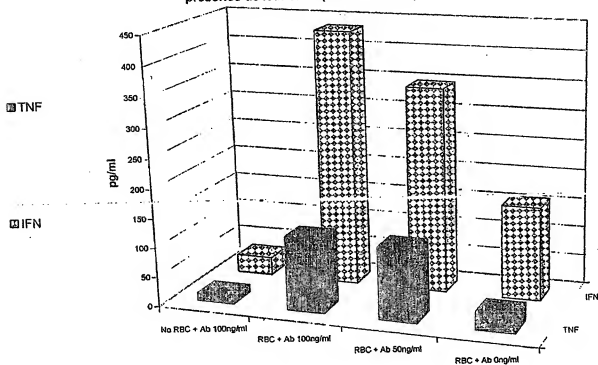


FIGURE 2B

Libération de cytokine (IFN, TNF) de cellules NK induites par des anticorps en présence de leur cible
(LFB-R297-RBC) 13/08/02

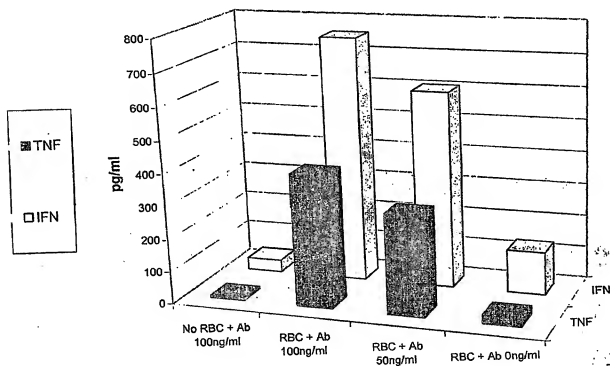


FIGURE 3

Libération d'IL2 de Jurkat CD 16
induites par des anticorps anti-CD20

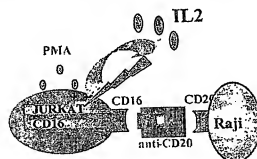


FIGURE 4A

Libération d'IL2 de Jurkat CD16 induites par un anti-CD20

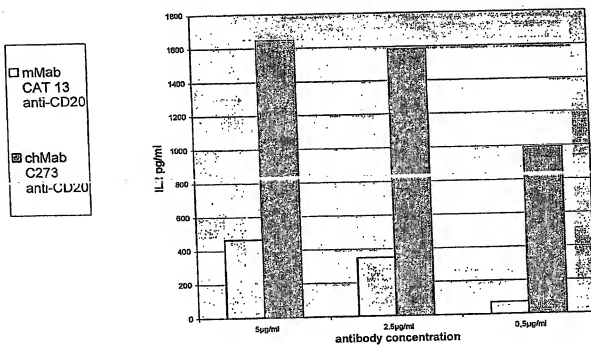


FIGURE 4B

Libération d'IL2 de Jurkat CD 16
induites par des anticorps anti-D

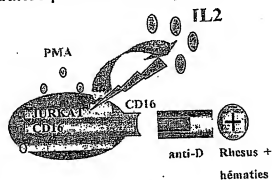


FIGURE 5A

Libération d'IL2 de Jurkat CD16 induites par anti-D

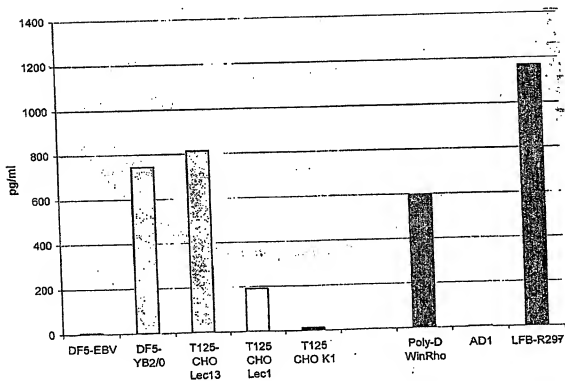


FIGURE 5B

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08


Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.../2...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 112 W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)		240057 NT	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0211415	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)			
UTILISATION D'UN ANTICORPS INDUISANT LA SECRETION DE CYTOKINES EN THERAPIE.			
LE(S) DEMANDEUR(S) :			
LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACTIONNEMENT ET DES BIOTECHNOLOGIES : Zone d'activité de Courtaboeuf - 3, avenue des Tropiques 91940 LES ULIS - FRANCE			
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :			
1	Nom de ROMEUR Christophe		
	Prénoms		
Adresse	Rue	116, rue de la Bassée	
	Code postal et ville	59000 LILLE FR	
Société d'appartenance (facultatif)			
2	Nom GAUCHER Christine		
	Prénoms		
Adresse	Rue	32, rue des Mésanges	
	Code postal et ville	59320 SEQUEDIN FR	
Société d'appartenance (facultatif)			
3	Nom GLACET Arnaud		
	Prénoms		
Adresse	Rue	46 rue Ringot	
	Code postal et ville	59147 GONDECOURT FR	
Société d'appartenance (facultatif)			
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.			
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)			
 321163			

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75000 Paris Cedex 08
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 2.../2...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

08 133 W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)
0211415

UTILISATION D'UN ANTICORPS INDUISANT LA SECRETION DE CYTOKINES EN THERAPIE.

LE(S) DEMANDEUR(S) :

LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACTIONNEMENT ET DES BIOTECHNOLOGIES : Zone d'activité de Courtaboeuf -
avenue des Tropiques 91940 LES ULIS - FRANCE

DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :

1	Nom		
	Prénoms		
Adresse	Rue	DHAINAUT Frédéric	
	Code postal et ville	14 rue de Bourdan	
Société d'appartenance (facultatif)		91870 BOISSY LE SEC	FR
2	Nom		
	Prénoms		
Adresse	Rue	BOUREL Dominique	
	Code postal et ville	35, avenue Germaine	
Société d'appartenance (facultatif)		50110 LA MADELEINE	FR
3	Nom		
	Prénoms		
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

DATE ET SIGNATURE(S)
DU (DES) DEMANDEUR(S)
OU DU MANDATAIRE
(Nom et qualité du signataire)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.